

**POSTPARTALE ÄNDERUNG DER RELATIVEN
SYNTHESERATEN DER GAMMA - GLOBINKETTEN
DES FETALEN HÄMOGLOBINS UND IHRE
KORRELATION ZUR HbF - HbA - UMSCHALTUNG**

FRANZ - ULRICH MARIENFELDT

1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554616_0094

AUS DER KINDERPOLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. med. H. Spiess

Postpartale Änderung der relativen Syntheseraten
der Gamma - Globinketten des fetalen Hämoglobins
und ihre Korrelation zur HbF - HbA - Umschaltung

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz-Ulrich Marienfeldt

aus Gelsenkirchen

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. M. Jensen

Mitberichterstatter : Prof. Dr. H. Spiess

Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 17. 2. 1987

Herrn Prof. Dr. med. Michael Jensen danke ich für die
Überlassung dieses Themas sowie für die ständige
freundliche Unterstützung und wertvolle Kritik.

Frau Heidi Ritzerfeld danke ich für ihre unentbehrliche und
stets freundliche Unterstützung im experimentellen Bereich.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Die menschlichen Hämoglobine Aufbau, Arten, Synthese

1.2 Das HbF und die Gammaglobinketten G-Gamma und A-Gamma

1.3 Fragestellung

2. Material und Methoden

2.1 Blutgewinnung

2.2 Aufbereitung der Erythrozyten

2.3 Radioaktive Markierung

2.4. Hämolyse und Globinpräzipitation

2.5 Trennung der Globine

2.6 Der Tritoneffekt

2.7 Durchführung der Säulenchromatographie

2.8 Bestimmung der Radioaktivität

2.9 Ermittlung der relativen Syntheseraten

2.10 Mehrfachbestimmungen und Kontrollen

2.11 Balance der Globine

3. Ergebnisse

3.1 Die $G\text{-Gamma}/(G\text{-Gamma} + A\text{-Gamma})$ - Syntheseraten

3.2 Die HbF zu HbA - Umschaltung

3.3 Korrelation zwischen der relativen G-Gamma -
Synthese und der prozentualen HbF - Synthese

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Die menschlichen Hämoglobine

Aufbau, Arten und deren Synthese

Bei dem menschlichen Hämoglobin handelt es sich um ein tetrameres Chromoprotein, welches aus 4 Proteinuntereinheiten (Globinen) mit je einer prosthetischen Gruppe (Häm) besteht (27,37,38). (Abb. 1.1)

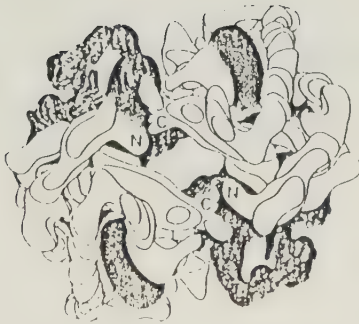


Abb. 1.1 Hämoglobin-Modell bei geringer Auflösung
Die Alpha-Ketten sind hell, die Beta-Ketten
dunkel dargestellt. (Nach Perutz (28))

Während der Evolution sind aus dem Uroglobin die Alpha-, Beta-, Gamma- und Deltaglobine hervorgegangen (10). Jedes Hämoglobinmolekül setzt sich aus 2 Paaren differenter Polypeptidketten und aus 4 Hämgruppen zusammen. Durch Kombination von 2 Alphaketten mit 2 Beta-, 2 Gamma- oder 2 Deltaketten entstehen die Hämoglobine $\alpha 2 \beta 2$ (=HbA1), $\alpha 2 \gamma 2$ (=HbF) und $\alpha 2 \delta 2$ (=HbA2) (31).

Die Aminosäuresequenzen dieser 4 Polypeptidketten sind bekannt. Die Alpha-Globinkette setzt sich aus 141 Aminosäuren zusammen. Die Beta-, Gamma- und Delta-Globinketten, welche sich auch als "Nichtalphaketten" zusammenfassen lassen, bestehen jeweils aus 146 Aminosäuren. Die Gamma- und Betakette unterscheiden sich insgesamt in 39 Positionen (33).

Von etwa der 8. Schwangerschaftswoche bis zur Geburt ist das HbF das überwiegende Hämoglobin im Blut eines Feten. Beim Erwachsenen ist es nur noch in Spuren nachweisbar, Hauptbestandteil ist hier das HbA1 mit einem Anteil von mehr als 95% des Gesamt-Hb, während das HbA2 ungefähr bis zu einem Anteil von 3% vorliegt. (vgl. Tab. 1)

HbA1	$\alpha 2 \beta 2$	>95% des Gesamt-Hb
HbA2	$\alpha 2 \delta 2$	~3% des Gesamt-Hb
HbF	$\alpha 2 \gamma 2$	<1% des Gesamt-Hb

Tab. 1 Die normalen Hämoglobinvarianten
des Erwachsenen

Die Hämoglobinsynthese erfolgt im erythropoetischen System vorwiegend im roten Knochenmark. Kurz nach Ausstoß der Retikulozyten in die periphere Blutbahn versiegt deren Globinsynthese. Aus ihnen entstehen die reifen, kernlosen Erythrozyten, welche nicht mehr in der Lage sind, Proteine zu synthetisieren. Ungefähr 95% der Trockensubstanz eines Erythrozyten besteht aus Hämoglobin (26).

Die Synthese der verschiedenen Globine wird durch mindestens 6 Genpaare kontrolliert. Die Alphaglobingene sind als Verband auf dem kurzen Arm des Chromosomens 16 lokalisiert (11,24).

Der Betagenkomplex, auch als Nichtalphaglobingenverband zusammengefaßt, ist auf dem kurzen Arm des Chromosomens Nr. 11 (12,25) lokalisiert und enthält in Form von Strukturgenen das Betagen, das Deltagen sowie die beiden fetalen Gene G-Gamma und A-Gamma (39). (vgl. Abb. 1.2)

Die Alpha-Globingene sind während des ganzen Lebens, mit Ausnahme der ersten embryonalen Wochen, aktiv; die Genexpression des Betagenkomplexes jedoch unterliegt einer deutlichen zeitlichen Änderung (34).

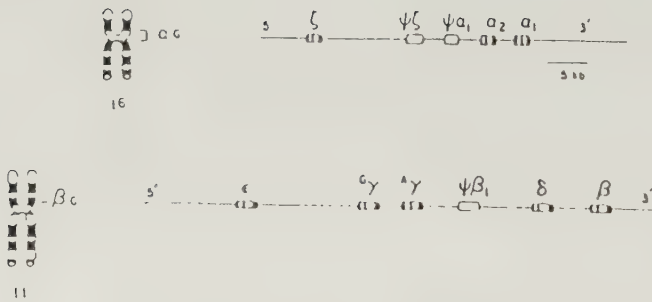


Abb. 1.2 Die chromosomale Lokalisation und Organisation der menschlichen Globingene im Genom.

Linke Abb.: Die Positionen der Alpha- und Beta-Globingenkomplexe auf den Chromosomen Nr. 11 und 16 .

Rechte Abb.: Die Anordnung der Gene in den beiden Komplexen.

(Aus: Stuart et al (39))

Während der ersten Wochen der präpartalen Entwicklung transportieren hauptsächlich sogenannte embryonale Hämoglobine den Sauerstoff. Ab der 10. bis 12. Woche der Fetalentwicklung nimmt der Anteil des HbF in den Erythrozyten des peripheren Blutes stark zu, demgegenüber verringert sich der Anteil der embryonalen Hämoglobine rasch (13,14,19). Zur gleichen Zeit setzt schon eine geringe Bildung von HbA ein, es findet also schon eine, wenn auch prozentual sehr geringe Synthese der Betaketten neben der zu dieser Zeit dominierenden Synthese von Gammaglobin statt. Cividalli (8) und Mitarbeiter haben die Syntheseraten bei Feten im Alter zwischen 6 und 16 Schwangerschaftswochen untersucht, hierbei ermittelten sie ein Beta- zu Gammasyntheseverhältnis von 0,06 bis 0,10 . Beim Feten beträgt der Anteil des HbF bis etwa zur 32. Schwangerschaftswoche ca. 90% des Gesamt-Hb's und nimmt danach stetig, zunächst sehr langsam, ab. Jensen untersuchte die in Vitrosyntheseraten bei Feten von der 16. Schwangerschaftswoche bis zu Geburt, um die 40. Schwangerschaftswoche erreichte das HbF nach kurzen steilen Abfall einen Wert von ca. 60% (15,17,18,29).

(Vgl. Abb. 1.3)

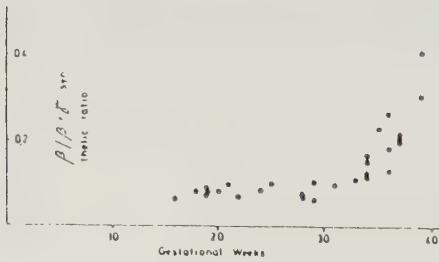


Abb. 1.3 Beta-Globin-Synthese im Blut von normalen Feten und Neugeborenen als Anteil der Nicht-Alpha-Globin-Synthese.

(Aus: Jensen : Fetal globin synthesis... (15))

Entsprechend den Syntheseverhältnissen der jungen Zellen des peripheren Blutes ändert sich dann auch die Zusammensetzung der Proteine. In den letzten Schwangerschaftswochen nimmt der Anteil von HbA1 rasch zu, der Anteil von HbF fällt dementsprechend ab. Zum Zeitpunkt der Geburt liegt das Verhältnis von HbA1 zu HbF um 0,3 bis 0,5 (22). (Vgl. Abb. 1.4)

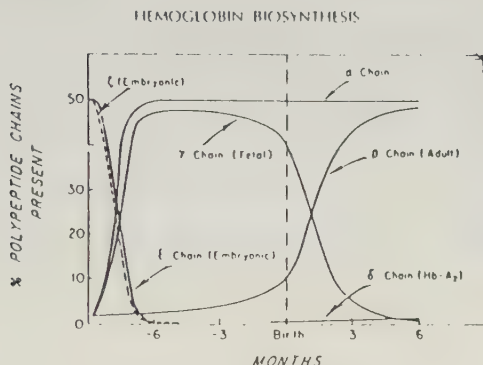


Abb. 1.4 Graphische Darstellung der Veränderungen in der menschlichen Globinsynthese während der Fetal- und Neugeborenenzeit. (Huehns et al., Zit. nach Bunn et al. (5,7,13))

In den ersten 100 Tagen postpartum ist ein weiterer steiler Anstieg des HbA1 -Anteils bei gleichzeitigem Abfall des HbF-Anteils zu verzeichnen. Im Alter von ungefähr 6 Monaten hat das HbA1 einen Anteil von ca. 97% erreicht (6), das HbA2 ist auf den durchschnittlichen Erwachsenenanteil von etwa 2,5% angestiegen, der HbF-Anteil auf ca. 1% abgefallen (42,43). Gemäß dieser Verteilung liegt bei gesunden Erwachsenen in den erythroiden Zellen des Knochenmarkes und des peripheren Blutes ein Syntheseverhältnis von Alpha- und Betaketten von nahezu 1 zu 1 vor (36).

1.2. Das HbF und die Gammaglobinketten G-Gamma und A-Gamma

Das HbF erscheint in 2 verschiedenen Varianten in Bezug auf den Gamma-Proteinanteil. Die beiden Gamma-Globinketten des fetalen Hämoglobins unterscheiden sich an der Position 136, entweder befindet sich dort die Aminosäure Glycin oder Alanin. Das HbF besteht also entweder aus 2 Alphaketten und 2 G-Gammaketten für die Variante mit der Aminosäure Glycin ($\alpha_2^G\gamma_2$), für die Variante mit der Aminosäure Alanin ergibt sich eine Tertiärstruktur mit 2 Alpha- und 2 A-Gammaketten ($\alpha_2^A\gamma_2$). Eine Mischform aus 2 Alphaketten und je einer G-Gamma- und einer A-Gammakette ist ebenfalls möglich ($\alpha_2^G\gamma^A\gamma$). Beim fetalen HbF findet sich ein Anteil von G-Gammaketten von ungefähr 70% der gesamten Gammaglobine (35). Das Verhältnis G-Gamma zu (G-Gamma + A-Gamma) beträgt 0,7 .

Beim Erwachsenen jedoch ist der Gamma-G-Anteil in der kleinen HbF-Fraktion auf einen Anteil von 40% rückläufig, G-Gamma zu (G-Gamma + A-Gamma) = 0,4 .

Die beiden Gamma-Globinkettentypen werden durch 2 nicht allele Globingene des Betagenkomplexes auf dem Chromosom Nr. 11 kodiert (25,34). Neben den Veränderungen des Hämoglobins vom Feten zum Erwachsenen im Verlauf der menschlichen Entwicklung muß eine weitere Umschaltung in der Expression der Globingene vorliegen, welche zur Folge hat, daß sich die relativen Anteile der beiden Gamma-Globine im HbF wie oben aufgezeigt verändern.

Von Schneider (32) wurden sowohl die Proteinanteile von G-Gamma- und A-Gammaglobin im HbF sowie deren Syntheseraten bei Feten um die 20. Schwangerschaftswoche und bei reifen Neugeborenen bestimmt. Messungen sowohl der vorhandenen Proteine als auch der einzelnen Syntheseraten ergaben ein G-Gamma zu Gesamt-Gamma-Verhältnis von nahezu konstant 0,67 . Attenberger (3) untersuchte den relativen G-Gamma-Proteinanteil bei Kindern im Alter von 24 bis 189 Tagen. Hierbei ergab sich ein linearer Abfall des G-Gamma zu Gesamt-Gamma-Quotienten bei deutlicher Korrelation mit dem noch vorhandenen HbF, das heißt, die Änderung des G-Gamma zu Gesamt-Gamma-Verhältnisses und die Umschaltung von HbF nach HbA scheinen in besonderer Weise miteinander verbunden zu sein. Da der HbF-Anteil bei Neugeborenen bereits deutlich geringer ist als bei Feten um die 20. Schwangerschaftswoche erfolgt gemäß Schneider (32) die Abnahme der beiden Gammaglobinanteile bis zur Geburt nahezu proportional. Während der postpartalen Phase jedoch scheint eine disproportionale Inaktivierung der beiden Gammagene vorzuliegen, welche zur Folge hat, daß sich das Verhältnis von G-Gamma zu A-Gamma zueinander ändert. Es ist anzunehmen, daß die Inaktivierung der Gammagene während der HbF zu HbA- Umschaltung nicht plötzlich und in allen Zellen des erythropoetischen Systems synchron beginnt; eine allmähliche Abnahme wäre wahrscheinlicher und in Anlehnung an andere biologische Regulationsabläufe für Änderungsvorgänge typischer. Einer langsamen Einleitungsphase würde ein rascher Wechsel folgen (=lineare Phase), welcher in einer Auslaufphase langsam zum Stillstand käme.

Eine graphische Darstellung dieser beiden Phänomene - auf der einen Seite präpartal eine proportionale, auf der anderen postpartal eine disproportionale Abnahme - wird am besten durch einen sigmoiden Kurvenverlauf beschrieben.

(vgl. Abb. 1.5)

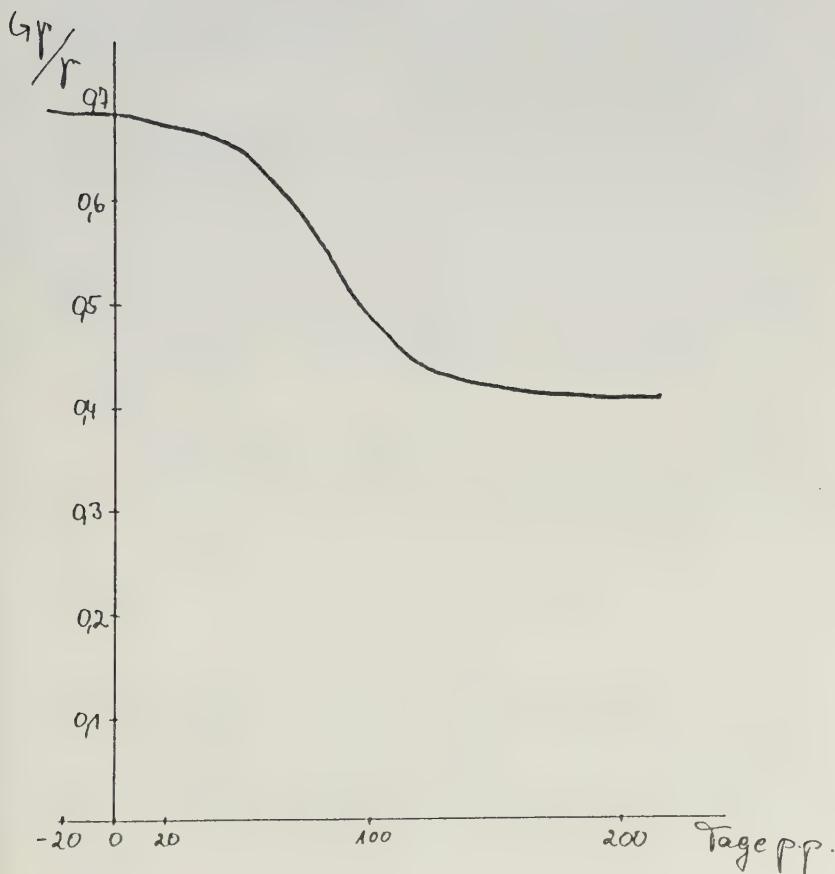


Abb. 1.5 Hypothetische Zeitkurve des G-Gamma zu Gesamtgamma-Globinverhältnisses.
(nach Attenberger (3))

1.3. Fragestellung

Während also für den Zeitraum um die 20. Schwangerschaftswoche und bei Neugeborenen die Syntheseraten und Proteinzusammensetzung bekannt sind, gibt es für den postpartalen Zeitabschnitt nur Daten über die Proteinzusammensetzung. Die durchschnittliche Lebensdauer HbF-haltiger Erythrozyten beträgt ungefähr 80 bis 90 Tage.

Änderungen der aktuellen Syntheseraten können deswegen erst mit einer gewissen Verzögerung zu einer meßbaren Änderung der Proteinzusammensetzung führen.

In dieser Arbeit wurden die Syntheseraten der Gammaglobine für den postpartalen Zeitraum ermittelt mit dem Ziel

1.) zu untersuchen, inwieweit eine nichtproportionale Änderung der Syntheseraten während der HbF zu HbA-Umschaltung stattfindet,

und

2.) festzustellen, ob sich die Hypothese erhärten läßt, daß die Umschaltung der Synthese, das heißt der aktuelle Regulationszustand der jüngsten noch zur Synthese befähigten Zellen, der Änderung der Proteinzusammensetzung vorausgeht.

2. Material und Methoden

2.1 Blutgewinnung

Für diese Studie wurde peripheres Venenblut durch Venenpunktion unter Antikoagulation mit Heparin meist im Rahmen von routinemäßigen Bilirubinkontrollen entnommen. Die Kinder waren morphologisch und hämatologisch unauffällig, sie waren in der 38. bis 41. Schwangerschaftswoche geboren worden und zum Zeitpunkt der Blutentnahme zwischen 3 Wochen und 4 Monaten alt.

2.2 Aufbereitung der Erythrocyten

In vivo findet die Globinsynthese zu 99% im Knochenmark und zu ca. 1% in den Retikulozyten und den kernhaltigen Erythrozytenvorstufen der Peripherie statt. Die Synthesefähigkeit dieser Zellen nimmt in vitro rasch ab, sodaß sofort nach der Blutentnahme mit der Aufbereitung begonnen werden muß.

Die Blutproben werden für 3 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und der Überstand verworfen. Die Zellsuspensionen werden mit Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer (KRP *) auf ein definiertes Volumen aufgefüllt und nach Zählung eines Tropfens in der Zählkammer die Gesamtzahl der Erythrozyten in der Probe berechnet. Anschließend erfolgen 2 zusätzliche Waschvorgänge, um das im Serum enthaltene Leucin weitgehend zu entfernen, da sonst die spezifische Aktivität des später zugesetzten radioaktiven Leucins verdünnt werden würde.

* Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer (KRP)

0,9 % NaCl	100 Teile	pH = 7,4 285 mosm
1,15 % KCl	4 Teile	
0,61 % CaCl ₂ × 2 H ₂ O	3 Teile	
3,82 % MgSO ₄ × 7 H ₂ O	1 Teil	
1,42 % Na ₂ HPO ₄	20 Teile	

2.3. Radioaktive Markierung

Der Überstand wird möglichst vollständig abgesaugt, daraufhin werden die gewaschenen Erythrozyten zu 0,3 ml einer 3H-Leucin-Lösung (x) dazugegeben und mit 2 Erythrozytenvolumina "Mastermix" (xx) aufgeschwemmt. Anschließend werden die Ansätze bei 37 Grad Celsius in einem Schüttelbad inkubiert. Hierbei wird das radioaktive 3H-Leucin von jungen, noch zur Synthese befähigten Erythrozyten in die neu synthetisierten Globine eingebaut (2).

Leucin wird deshalb verwendet, weil es in allen Globinketten nahezu gleichoft vorkommt, nämlich je 18 x im Alpha- und Betaglobin und 17 x im Gammaglobin.

(x) L-Leucin - 3H, NET 135 H, New England Nuclear Corp., Boston, Mass. USA

(xx) "Mastermix"
1 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Puffer
0,4 ml Aminosäurenmischung 19 (ohne Leucin)
4 mg Glucose

2.4. Hämolyse und Globinpräzipitation

Zum Stoppen der Inkubation und zur Entfernung des Inkubationsmediums, insbesondere des ^3H -Leucins, werden die Erythrocyten nach 2 Stunden dreimal in 0,9%iger kalter NaCl-Lösung gewaschen.

Die Hämolyse der Erythrozyten wird durch Zugabe von 5 Volumina einer 0,005 M Magnesiumchloridlösung unter ständigem Schütteln erreicht. Durch Verwendung der Magnesiumchloridlösung werden gezielt die Erythrozyten lysiert und dadurch Verunreinigungen durch Leukozytenproteine weitgehend vermieden. Die Proben werden anschließend 5 Minuten lang zentrifugiert (x), der klare Überstand vorsichtig zur Weiterbehandlung abpipettiert und sein Volumen bestimmt.

Die Hämoglobinpräzipitation erfolgt durch vorsichtiges Eintropfen des klaren Hämolysats bei -20°C in ein 2% HCl-Aceton-Mercaptoäthanol-Gemisch bestehend aus 2 ml konzentrierter HCl, 98 ml Aceton und 8 Tropfen Mercaptoäthanol (23). Anschließend wird dieses Gemisch 5 Minuten lang zentrifugiert (x) und der Überstand verworfen. Das sedimentierte Globin wird dreimal bei -20°C in Aceton gewaschen und anschließend mit N_2 getrocknet. Das so getrocknete Globin wird bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C gelagert.

2.5 Trennung der Globine

Nach Clegg et al (9) erfolgt die Auftrennung in Alpha-, Beta- und Gammaglobin durch eine Säulenionenaustausch-chromatographie an Carboxymethylzellulose in 8 N Harnstoff mittels eines modifizierten Na_2HPO_4 - Gradienten nach Jensen (15) bei einem pH von 6,7 .

Die für die Chromatographie verwendete Harnstofflösung wird vorher durch Passage eines "mixed bed resin" (x) entionisiert und hat eine Leitfähigkeit von weniger als $5 \times 10^{-6} \text{ S}$. Der Startpuffer (SB) enthält 3,7 mMol Na_2HPO_4 pro Liter 8 N Harnstofflösung, der Endpuffer (FB) 34,5 mMol Na_2HPO_4 pro Liter 8 N Harnstofflösung. Beide Puffer enthalten 1mMol Dithioerythrit / l 8 N Harnstofflösung. Die Tritation auf pH = 6,7 erfolgt mit H_3PO_4 . Das bei der Chromatographie verwendete 3H-Leucin-Globin wird im Startpuffer aufgelöst und viermal für 20 Minuten gegen 25 ml Startpuffer dialysiert.

(x) AB 501 - X8 (D), Bio Rad Laboratories, Richmond, Calif., USA

2.6 Der Tritoneffekt

Normalerweise unterscheiden sich G-Gamma- und A-Gamma-Globine nicht in ihren elektrophoretischen und chromatographischen Eigenschaften. Eine Auftrennung in G-Gamma und A-Gamma-Globin ist nach Rovera (30) erst nach Zugabe des nicht ionischen Detergens Triton-X-100 (x) möglich, dieses Phänomen wird auch als Tritoneffekt beschrieben.

(Vgl. Abb 2.1.;2.2)

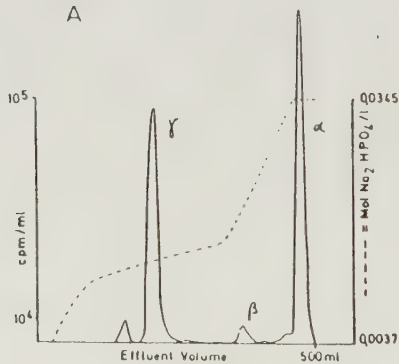


Abb. 2.1 Radiochromatogramm von Globin von normalem fetalen Blut. (Aus Jensen: Fetal globin synthesis ... (15))

(x) Triton-X-100, SERVA Feinbiochemika, Heidelberg

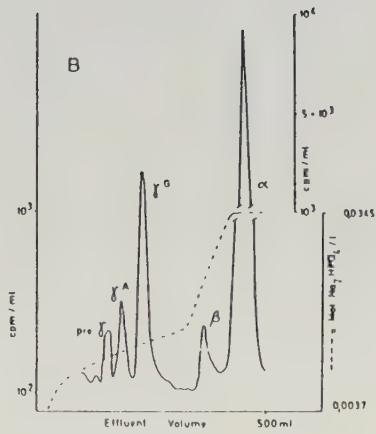


Abb. 2.2 Gleiche Probe wie bei Abb. 2.1 nach Zugabe von 4% Triton-X-100 zur Pufferlösung (Aus Jensen: Fetalglobin synthesis... (15))

2.7 Durchführung der Säulenchromatographie

Das Globin von 9 verschiedenen Kindern wird in Anlehnung an Clegg et al (9) mit Hilfe einer Harnstoff-Carboxymethyl-zellulosesäulenchromatographie bei einem modifizierten Phosphatgradienten nach Jensen (15) unter Zugabe von 4% Triton-X-100 in die einzelnen Globinketten aufgetrennt. 8 bis 15 mg Globin werden jeweils in 1 ml Startpuffer aufgelöst und hiermit dann die Säule zu Beginn überschichtet.

2.8 Bestimmung der Radioaktivität

Jeweils 1 ml des Eluats der einzelnen Fraktionen wird mit 15 ml Szintillationsflüssigkeit (*) gemischt und anschließend die Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler (**) gemessen.

Da die Gammaketten jedoch nur 17 Leucinreste, die Alpha- und Betaketten hingegen 18 Leucinreste enthalten, wird für die Berechnung des Synthesequotienten die Aktivität der Gammaketten enthaltenen Fraktionen mit dem Faktor 18/17 multipliziert. Die Gesamtaktivität der einzelnen Peaks für die Syntheseraten der verschiedenen Globinketten ergibt sich durch Summation der Aktivität der einzelnen Peakfraktionen abzüglich der sogenannten Basisaktivität, die durch Bildung des Mittelwertes der Aktivität der letzten noch nicht und der ersten nicht mehr zum Peak gehörenden Fraktion ermittelt wird. Die graphische Darstellung der Meßwerte erfolgt in einem Diagramm.

Als Beispiele sind die Meßwerte eines Kindes im Alter von 29 sowie 108 Tagen in den Abb. 2.3 und 2.4 graphisch dargestellt.

(*)	PPO (Diphenyl-Oxazol)	12,6 g
	POPOP (2,2-p-Phenyl-bis-(5-phenyloxazol))	0,9 g
	Toluol	1200 ml
	Methanol	1200 ml
	Äthylenglycolmonoethyläther	200 ml

(**) Mod. Isocap 300, Nuclear Chicago Corp.

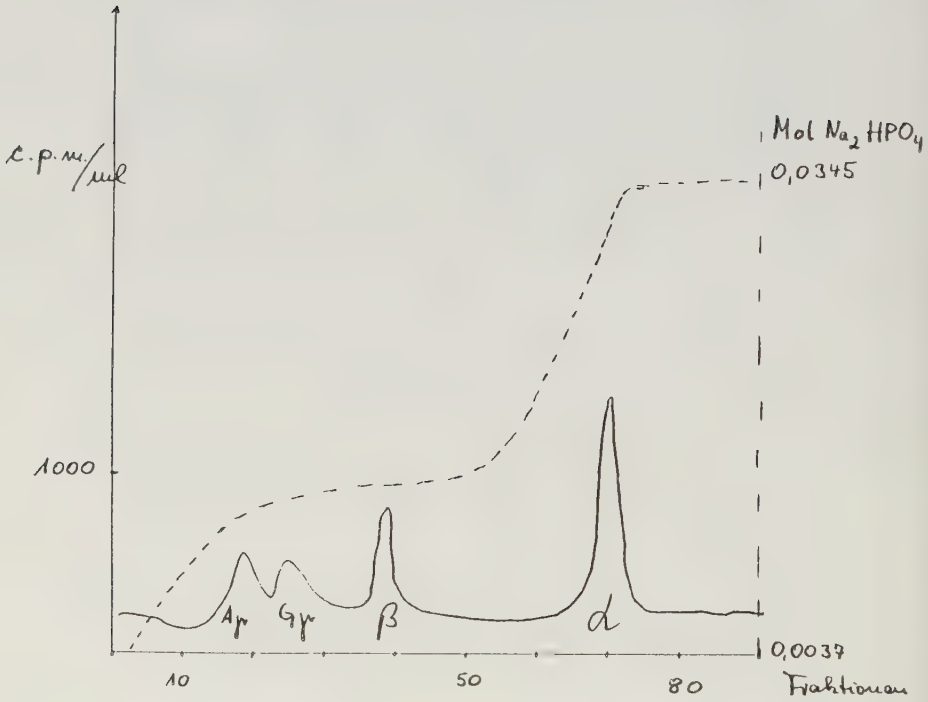


Abb. 2.3. Radiochromatogramm von Globin eines Kindes
im Alter von 29 Tagen.

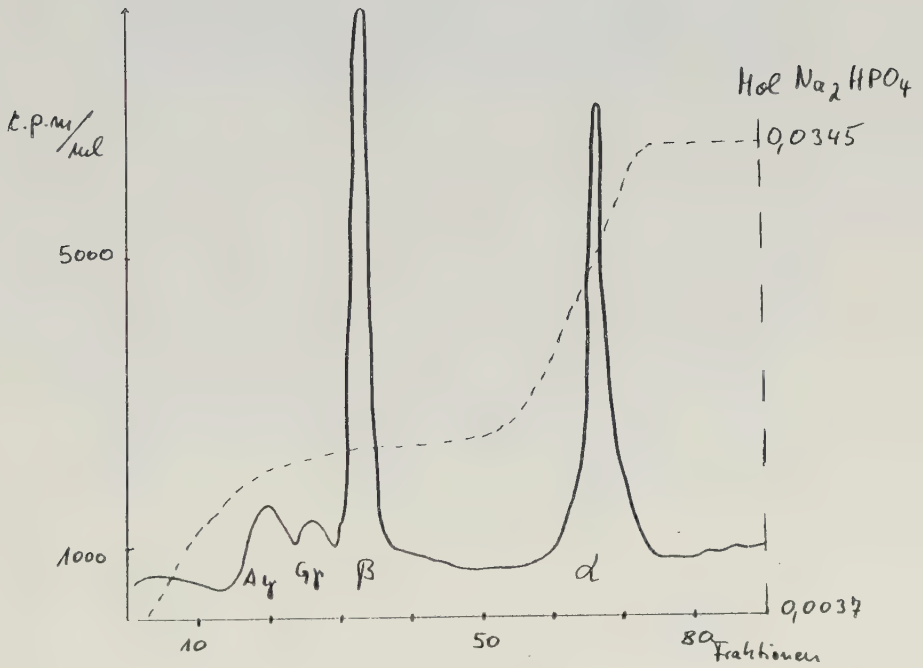


Abb. 2.4 Radiochromatogramm von Globin eines Kindes
im Alter von 108 Tagen.

2.9 Die Ermittlung der relativen Syntheseraten

Die Summation der Radioaktivität in counts per minute (cpm) des in den einzelnen Ketten inkorporierten Leucins stellt ein direktes Maß für die während der 2- stündigen Inkubation abgelaufenen Globinsynthese dar. Die Globinsynthese in den verschiedenen Blutproben ist außerordentlich unterschiedlich. Bisher ist es jedoch noch nicht gelungen, alle Parameter zu definieren und zu kontrollieren, welche einen Einfluß auf die synthetische Aktivität der Zellsuspension haben. Eine direkte Abhängigkeit besteht sicher von der Anzahl der in den einzelnen Blutproben vorhandenen Retikulozyten. Proben mit einem hohen Anteil an Retikulozyten synthetisieren mehr Globin als solche mit weniger Retikulozyten. Die Ermittlung absoluter Syntheseraten, das heißt die Syntheseaktivität in Relation zur Zahl der vorhandenen Retikulozyten bzw. Erythrozyten, erscheint wenig sinnvoll. Wesentlich genauer und aussagekräftiger und vor allem mit anderen Proben vergleichbar, sind Aussagen über die relativen Syntheseraten der verschiedenen Globinketten einer Probe.

Aus den erhobenen Meßwerten werden folgende Verhältnisse ermittelt:

- 1.) G-Gamma zu (G-Gamma + A-Gamma), um eine mögliche entwicklungsgemäße Änderung dieses Verhältnisses bei den Syntheseraten festzustellen

und

- 2.) Gamma zu (Gamma + Beta), um den Gesamtanteil an den Nichtalphaglobinkettensyntheseraten zu erhalten, um damit auch eine Kontrolle bzw. Bestätigung der HbF zu HbA1- Umschaltung für den hier untersuchten Beobachtungszeitraum zu erhalten.

2.10 Mehrfachbestimmungen und Kontrollen

Die Säulenchromatographie wurde für jede Globinprobe mehrfach, je nach zur Verfügung stehender Globinmenge, durchgeführt. Verwendet wurden die Mittelwerte der Quotienten aus den Mehrfachbestimmungen.

Die Gesamtradioaktivität der einzelnen Peaks wurde durch Summation der einzelnen Fraktionen in cpm/ml (counts per minute/ml) abzüglich der Basisaktivität ermittelt. Zur Kontrolle wurden die Peaks, deren Flächeninhalte den Syntheseraten proportional sind, auf schweres, hochtransparentes Pergamentpapier gepaust, ausgeschnitten und auf einer Präzisionswaage (x) gewogen. Die Abweichungen zwischen diesen beiden Auswertungsmethoden lag unter 5% .

(x) Präzisionswaage Sartorius Type 2414, Sartorius Werke G.m.b.H., Göttingen

2.11 Balance der Globine

Den Werten der Alphaglobinsynthese wird die Summe der dazugehörigen Nichtalphaglobinsyntheseraten gegenübergestellt. Das Verhältnis von (Beta- + Gamma-synthese) zu Alphasynthese stellt einen Ausdruck für die Balance der Globine dar, d.h. inwieweit Alpha- und Nichtalpha-globinketten, welche sich zu definierten Hämoglobintetrameren zusammensetzen, im gleichen Ausmaß synthetisiert werden.

Bei den durchgeführten Messungen ergab sich ein Mittelwert bei allen Proben von $M = 1,085$ mit einer empirischen Standardabweichung von $s = \pm 0,09$.

3. Ergebnisse

3.1 Die G-Gamma/(G-Gamma + A-Gamma) - Syntheseverhältnisse

In Tab. 3.1 sind die relativen Gammaglobinkettensyntheseraten der 9 untersuchten Kinder zusammengestellt.

Nr.	Alter in Tagen	G-Gamma/(G-Gamma + A-Gamma)
-----	----------------	-----------------------------

1	22	0.51
2	29	0.45
3	31	0.59
4	39	0.53
5	52	0.65
6	57	0.49
7	92	0.44
8	97	0.36
9	108	0.40

Tabelle 3.1 Gamma-Globinkettensyntheseverhältnis
in Abhängigkeit vom postpartalem Alter

Die Beziehung - relative G-Gammaglobinsynthese der Gesamt-Gammasynthese (Ordinate) in Abhängigkeit vom postpartalem Alter des Kindes (Abszisse) - ist in Abb. 3.1 graphisch dargestellt.

Im untersuchten Zeitraum zeigt sich ein geringfügiger Abfall des G-Gamma/(G-Gamma + A-Gamma)-Synthesequotienten.

Die Regressionsgerade lautet:

$$\text{G-Gamma}/(\text{G-Gamma} + \text{A-Gamma}) = (-0,0018 \times \text{Tage}) + 0,59$$

Es besteht eine nichtsignifikante Korrelation von $r = -0,64$.

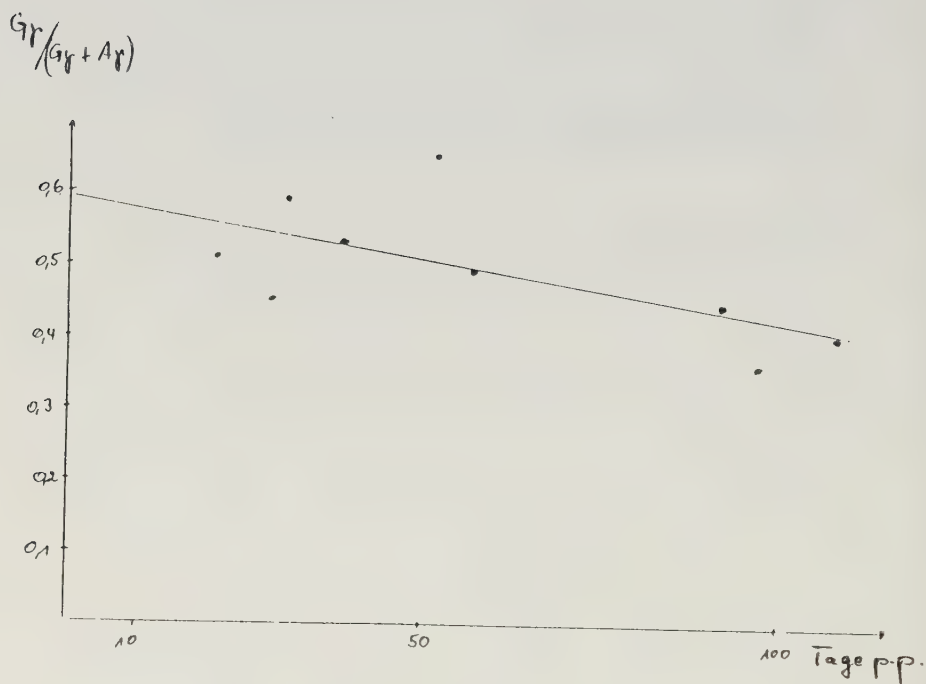


Abb. 3.1 Das G-Gamma / (G-Gamma + A-Gamma) - Syntheseverhältnis in den ersten postpartalen Monaten .
 $r = - 0.64$

3.2 Die HbF zu HbA1 - Umschaltung

Der $\text{Gamma}/(\text{Gamma} + \text{Beta})$ -Quotienten multipliziert mit 100 gibt den prozentualen Anteil der HbF-Synthese an und gilt somit als Indikator für die HbF zu HbA1 - Umschaltung.

Die ermittelten Ergebnisse der 9 untersuchten Kinder sind in Tab. 3.2 zusammengefaßt und in Abb. 3.2 graphisch dargestellt.

Nr.	Alter in Tagen	$\text{Gamma}/(\text{Gamma} + \text{Beta})$

1	22	0.57
2	29	0.60
3	31	0.35
4	39	0.31
5	52	0.24
6	57	0.31
7	92	0.30
8	97	0.37
9	108	0.25

Tabelle 3.2 $\text{Gamma}/(\text{Gamma}+\text{Beta})$ -Syntheseverhältnis in Abhängigkeit vom postpartalem Alter

In dem hier untersuchten Zeitraum zeigt sich ein geringfügiger Abfall des $\text{Gamma}/(\text{Gamma} + \text{Beta})$ -Quotienten, das heißt, daß die HbF-Syntheserate kontinuierlich abfällt.

Die Regressionsgerade lautet:

$$\text{Gamma}/(\text{Gamma} + \text{Beta}) = (- 0,00234 \times \text{Tage}) + 0,50$$

Es besteht eine nichtsignifikante Korrelation von $r = - 0,58$.

$$\gamma / (\gamma + \beta)$$

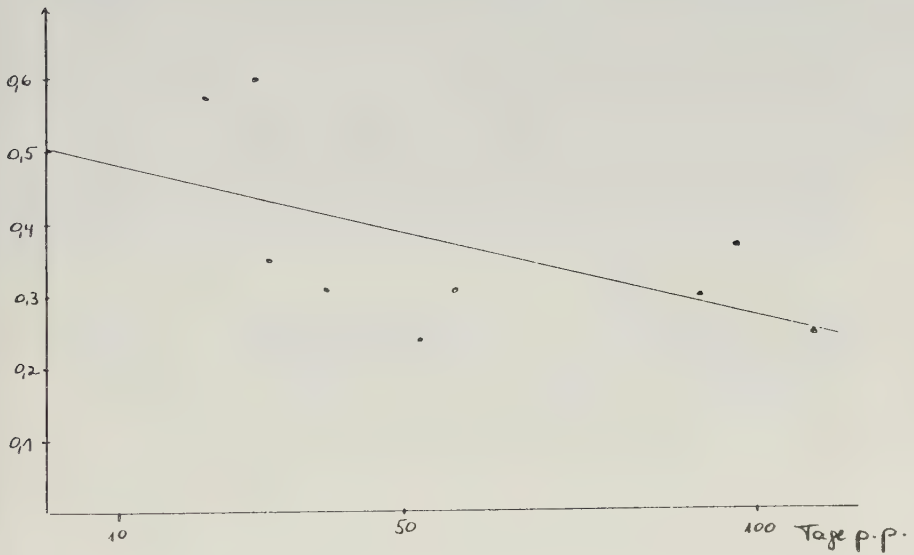


Abb. 3.2 $\gamma / (\gamma + \beta)$ - Syntheseverhältnis
als Funktion des Alters.

$$r = - 0.58$$

3.3 Korrelation zwischen der relativen G-Gamma-Synthese und der prozentualen HbF-Synthese

Der Zusammenhang zwischen dem Wechsel der relativen G-Gamma-Synthese und der HbF-Syntheserate in vivo ist in Abb. 3.3 dargestellt.

Der G-Gamma/(G-Gamma + A-Gamma)-Synthesequotient ist gegen den Gamma/(Gamma + Beta)-Synthesequotienten aller untersuchten Kinder aufgetragen.

Die Regressionsgerade lautet:

$$\text{G-Gamma/Gamma} = (-0,1255 \times (\text{Gamma}/(\text{Gamma} + \text{Beta}))) + 0,54$$

Es besteht eine nichtsignifikante Korrelation
von $r = -0,17$.

In den ersten Monaten post partum ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Abnahme der HbF-Syntheserate und der Änderung der relativen Anteile der G-Gamma- und A-Gammaglobinsynthese demonstrieren.

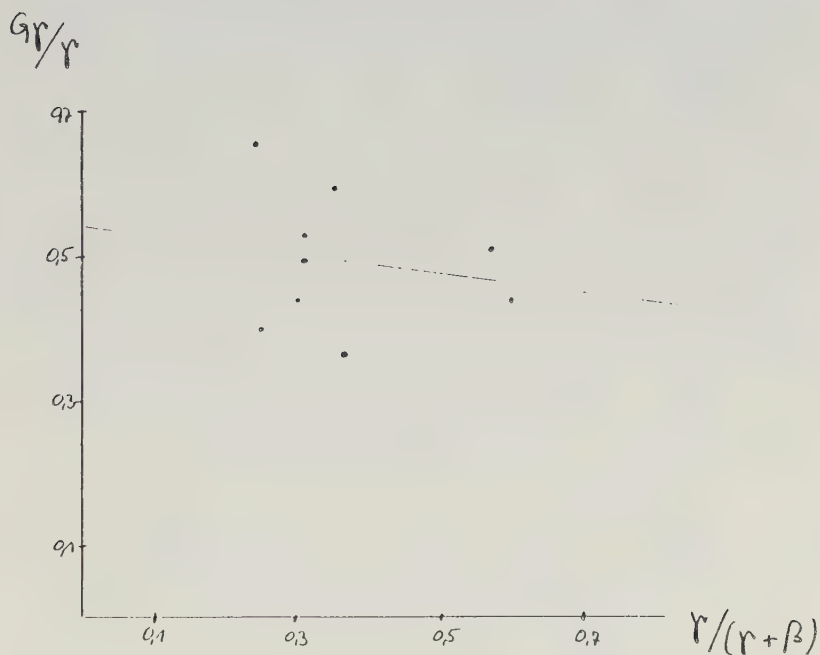


Abb. 3.3 Korrelation der Syntheseraten von G-Gamma / Gamma und Gamma / (Gamma + Beta) .

Der Quotient Gamma / (Gamma + Beta) ist ein Indikator des HbF / (HbF + HbA) - Verhältnisses.

$$r = - 0.17$$

4. Diskussion

Die Hämoglobin-Umschaltung von 90% HbF beim Feten zu weniger als 1% HbF beim Erwachsenen ist mehrfach untersucht worden, es wurden verschiedene Methoden der Quantifizierung von HbA und HbF wie auch biosynthetische Verfahren angewandt (4,16,41,42) .

Der Hauptanteil des Hämoglobins wird von blutbildenden Elementen des Knochenmarkes synthetisiert. Nach Ausstoß der erythroiden Zellen in das periphere Blut bleibt deren Synthesefähigkeit jedoch nur für eine kurze Zeit bestehen. Messungen der relativen Globinsyntheseraten mittels radioaktiv markierten Aminosäuren, welche in das Globin peripherer Retikulozyten und Vorstufen der Erythrozyten eingebaut wurden, spiegeln den Regulationszustand einer ganz bestimmten jungen Erythrozytenpopulation wider.

Um den Zeitraum der Geburt beträgt der Anteil des HbF bei einem Neugeborenen gemäß den Angaben verschiedener Autoren (4,16,41,42) zwischen 60 und 90 % des Gesamthämoglobins. Diese große Schwankungsbreite ist hauptsächlich durch die verschiedenen Gestationsalter, in geringem Maße durch plazentare Stoffwechselaustauschbedingungen, genetische Konstitution und weitere nicht im einzelnen verifizierbare Einflüsse bedingt. Der HbF-Anteil ist unabhängig vom Geburtszeitpunkt, d.h. ob die Geburt termingerecht erfolgte oder nicht, korreliert jedoch mit dem Gestationsalter (4) .

Die Globinzusammensetzung im peripheren Blut während der HbF zu HbA-Umschaltungsperiode unterliegt nicht nur allein dem Kontrollmechanismus der Globinsynthese, sondern auch der turn-over Rate der Erythrozyten, deren Lebensdauer und Neusyntheserate. Der Hauptanteil des Hämoglobins ist in den Erythrozyten enthalten, welche kein Hämoglobin mehr produzieren und die in ihren individuellen Synthesephasen von unterschiedlichen Regulationseinflüssen abhängig waren. Deswegen ist zu erwarten, daß Änderungen der relativen Gamma- und Betaglobinsyntheseraten erst mit einer gewissen Verzögerung messbare Veränderungen in bezug auf die Globinzusammensetzung ergeben.

Die in vitro Globinsynthese, wie sie Jensen et al (16) durchführten, brachten bis jetzt nur für den präpartalen Lebensabschnitt, bei starker Gamma-Globinsynthese, aussagekräftige und verifizierbare Ergebnisse. Nach Inkubation mit radioaktiven Aminosäuren wurde der Regulationszustand der Genexpression nur für die spezifische Population junger Zellen, nämlich der Retikulozyten und jungen Erythrozyten gemessen. Hierbei zeigte sich, daß in der 32. bis 34. Schwangerschaftswoche die Beta-Globinsynthese anzusteigen beginnt, die Gamma-Globinsynthese dagegen entsprechend abnimmt. Die Aktivität der Gamma-Globingene der das rote Knochenmark verlassenen Zellen wird von dieser Zeit an zunehmend geringer (15,40) .

Im Gegensatz zum Wissen um die perinatale Gamma- zu Betaglobinumschaltung fehlten bisher Informationen über den Wechsel der relativen Anteile von G-Gamma- und A-Gammaglobin, nämlich von 70% G-Gammaglobin im fetalen HbF zu etwa 40% G-Gammaglobin im HbF des Erwachsenen. Die relativen Verhältnisse der G-Gamma- und A-Gammaglobine und ihre Syntheseraten bei Feten in der 20. Schwangerschaftswoche und bei Neugeborenen wurden von Schneider (32) gemessen. Hierbei ergab sich kein meßbarer Unterschied in der Zusammensetzung des HbF bei Neugeborenen und Feten, das relative G-Gamma zu Gamma - Verhältnis lag bei der Bestimmung der Proteinanteile und den relativen Syntheseraten nahezu konstant bei 0,67 ; übereinstimmende Ergebnisse wurden auch von Alter et al (1,15) erzielt.

Die postpartale Änderung der relativen Anteile der Gammaglobinketten des HbF sowie ihre Korrelation zur HbF nach HbA1-Umschaltung wurde von Attenberger (3) bei Kindern im Alter von 24 bis 189 Tagen untersucht. Hierbei zeigte sich in den Monaten nach der Geburt eine stetige Abnahme des G-Gamma zu Gamma - Verhältnisses, welche mit dem noch vorhandenen Anteil an HbF deutlich korrelierte.

In dieser Arbeit wurden die relativen Syntheseraten der Gammaketten bei Kindern im Alter von 22 bis 108 Tagen mit Hilfe einer Ionenaustauschsäulenchromatographie nach Clegg et al (9) untersucht.

Hierbei zeigte sich, daß sich das Verhältnis der G-Gamma- zur Gesamt-Gammasyntheserate aus den gemittelten Meßergebnissen von 0,55 bei Kindern im Alter von 20 bis 30 Tagen auf 0,4 bei Kindern im Alter von 100 bis 120 Tagen änderte (vgl. Abb. 3.1) .

Im gleichen Zeitraum nahm die HbF-Synthese von 53% auf 25% ab (vgl. Abb. 3.2) .

Ein direkter Zusammenhang zwischen den relativen Anteilen der G-Gammasyntheserate und der HbF zur HbA1 - Umschaltung (d.h. Abnahme der Gesamt-Gammasynthese) ließ sich im Einzelfall bei einem nicht signifikanten Korrelationsfaktor von $r = - 0,17$ im untersuchten Zeitraum nicht nachweisen (vgl. Abb. 3.3), dies dürfte im wesentlichen durch die insgesamt geringen Syntheseraten, die damit verbundene Meßungenauigkeit und Streuung der Meßwerte bedingt sein. Werden die vorher ermittelten Regressionsgeraden der relativen G-Gammasynthese und der prozentualen HbF-Synthese zueinander in Beziehung gesetzt, so ergibt sich eine klare Abhängigkeit zueinander (vgl. Abb. 4.1) .

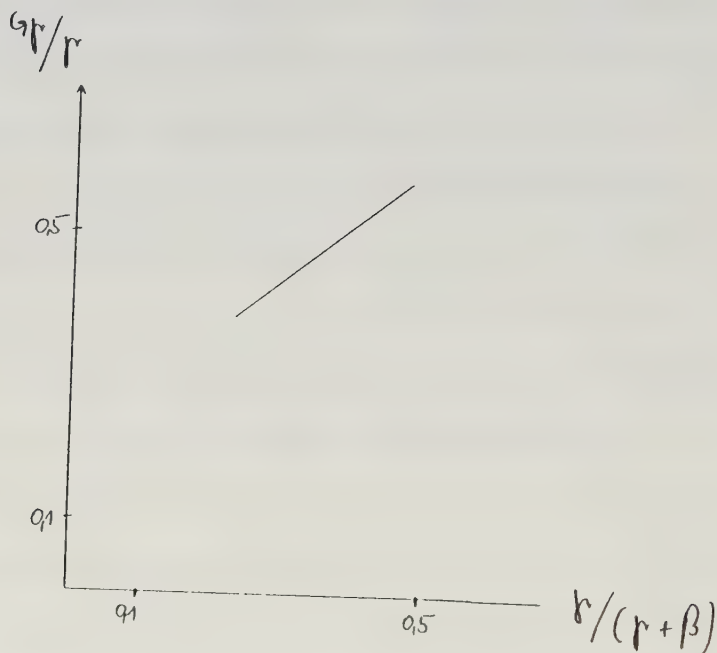


Abb. 4.1 Beziehung der beiden Regressionsgraden
der Syntheseraten von
(G-Gamma / Gesamtgamma) und
(Gesamtgamma / (Gesamtgamma + Beta)) zueinander

Im untersuchten Zeitraum besteht somit ein Zusammenhang zwischen der Abnahme an HbF bzw. Zunahme von HbA₁ und der Änderung der relativen G-Gamma- zu A-Gamma-Syntheseverhältnisse. So wie die Synthese von HbF abnimmt, so reduziert sich auch die relative G-Gamma- zugunsten der A-Gammasynthese.

Hieraus ergibt sich nun postpartal eine disproportionale Inaktivierung beider Gammagene, in dem sich das Verhältnis der Gammakettensyntheseraten zueinander ändert. Zu selben Ergebnissen kam auch Attenberger (3) bei seiner Untersuchung der relativen Proteinverhältnisse.

Die von Schneider (32) ermittelten relativen G-Gamma-syntheseraten von 0,67 bei 6 Neugeborenen und die in dieser Arbeit erhobenen Daten für Kinder im Alter von 22 bis 108 Tagen lassen sich in Form einer Regressionsgeraden gemäß der Gleichung $G\text{-Gamma}/\text{Gamma} = (-0,0025 \times \text{Tag}) + 0,65$ bei einem Korrelationsfaktor von $r = -0,85$ zusammenfassen (vgl. Abb. 4.2) .

Ein relatives G-Gamma zu Gamma - Verhältnis von 0,4 , wie es auch später im geringen HbF-Anteil des Erwachsenen zu finden ist, liegt bei der Bestimmung der Syntheseraten schon um den 100. Tag post partum vor, während ein entsprechendes Verhältnis bei den Proteinanteilen gemäß den Untersuchungen von Attenberger (3) erst 60 bis 80 Tage später, also um den 160. bis 180. Tag post partum ermittelt werden konnte (vgl. Abb 4.2) .

Hieraus folgt, daß Änderungen der relativen G-Gamma-syntheseraten erst mit einer gewissen Verzögerung bei den Proteinanteilen sichtbar werden, diese zeitliche Differenz kann im wesentlichen durch die mittlere Lebensdauer HbF-haltiger Erythrozyten erklärt werden.

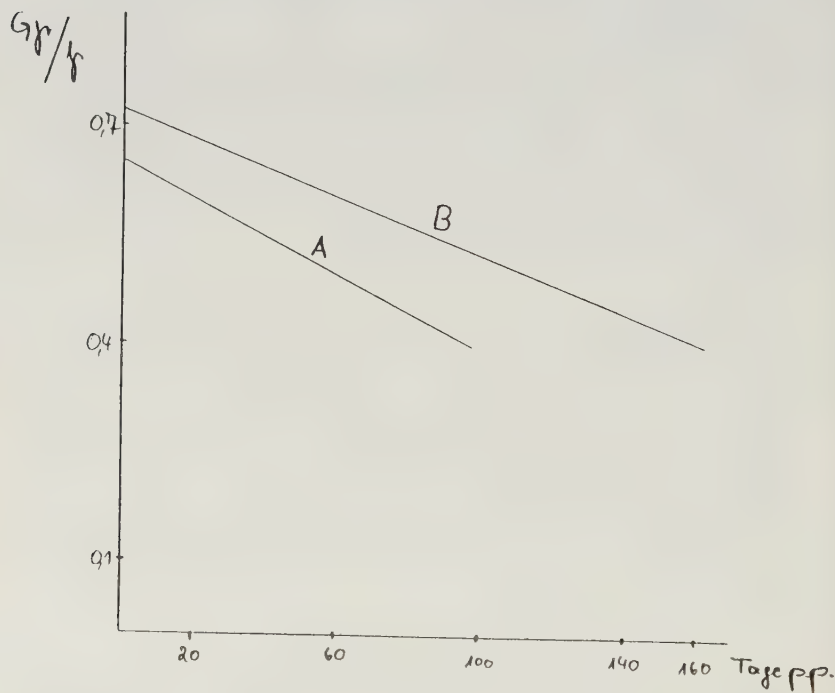


Abb. 4.2 G-Gamma zu Gamma -Verhältnisse bei den Syntheseraten ((A) unter Berücksichtigung der von Schneider (32) ermittelten Werte)) und den Proteinanteilen ((B) nach Attenberger (3))

Die Balance der Globinsyntheseraten unterliegt einer gewissen Schwankungsbreite (vgl. Abschnitt 2.11), die Alpha-Globinsyntheserate war zumeist etwas geringer als beim Nicht-Alphaglobinanteil. Bei den hier durchgeführten Messungen ergab sich ein Mittelwert des Balancequotienten bei allen Proben von $M = 1,085$ bei einer empirischen Standardabweichung von $s = \pm 0,09$. Ähnliche Schwankungen werden auch von Kan et al (20,21), die mit anderen Methoden arbeiteten, in der Umschaltperiode beschrieben.

5. Zusammenfassung

Die Syntheseraten der beiden Gammaketten G-Gamma und A-Gamma des HbF wurden bei Kindern im Alter von 22 bis 108 Tagen untersucht.

Das Syntheseverhältnis von G-Gamma / (G-Gamma + A-Gamma) nahm während des untersuchten Zeitraumes kontinuierlich ab, ebenso war ein deutlicher Rückgang der prozentualen HbF - Synthese, ausgedrückt in Form des Gamma zu (Gamma + Beta) - Quotienten, zu erkennen.

Es zeigte sich eine klare Abhängigkeit zwischen diesen beiden Phänomenen, wenn auch eine direkte Korrelation im Einzelfall nicht nachgewiesen werden konnte.

Die Abnahme der Syntheseraten geht der Abnahme der vorhandenen Proteinanteile (3) um ca. 60 bis 80 Tage voraus, diese zeitliche Differenz kann im wesentlichen durch die Lebensdauer HbF-haltiger Erythrozyten erklärt werden.

Unter Berücksichtigung der von anderen Untersuchern ermittelten Syntheseraten bei Feten und Neugeborenen (32) läßt sich präpartal eine proportionale und postpartal eine disproportionale Inaktivierung der Gammagene erkennen, welche zur Folge hat, daß sich postpartal das relative Syntheseverhältnis von G-Gamma zu A-Gamma ändert.

6. Literaturverzeichnis

- 1) Alter, B.P. : The G-Gamma:A-Gamma composition of fetal hemoglobin in fetuses and newborns.
Blood 54 : 1158 ff , (1979)
- 2) Alter, B.P., Modell, C.B., Fairweather, D. et al :
Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies.
N Engl J Med 295 : 1437 (1976)
- 3) Attenberger, H. : Postpartale Änderung der relativen Anteile der gamma - Globinketten des fetalen Hämoglobins und ihre Korrelation zur HbF-HbA-Umschaltung.
Inaugural-Dissertation, München 1986
- 4) Bard, H. : Postnatal fetal and adult hemoglobin synthesis in early preterm newborn infants.
J Clin Invest 52 : 1789 (1973)
- 5) Beck, W.S. : Hematology 2nd ed.
Boston, MIT Press (1976)
- 6) Betke, K. : Fetal hemoglobin in health and disease.
Proc. 8th Int. Congr. Hemat. Tokyo pp. 1033 ff (1960)

- 7) Bunn, H.F., Forget, B.G., Ranney, H.M. :
Human hemoglobins . W.B. Saunders Company Philadelphia-
London-Toronto (1977)
- 8) Cividalli, G., Nathan, D.G., Kan, Y.W., Santamaria, B.,
Frigoletto, F. : Relationship of beta to gamma
synthesis during the first trimester. An approach to
prenatal diagnosis of thalassemia. Ped. Res. 8, 553
(1974)
- 9) Clegg, J.B., Naughton, M.A., Weatherall, D.J. :
Abnormal human hemoglobins: separation and
characterization of the alpha- and beta- chains by
chromatography, and the determination of two new
variants, Hb Chesapeake and Hb J (Bangkok).
J. Mol. Biol. 19, 91 - 108 (1966)
- 10) Czihak, G., Langer, H., Ziegler, H.: Biologie
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1976)
- 11) Deisseroth, A., Nienhuis, A., Turner, P. et al :
Localization of the human alpha globin structural gene
to chromosome 16 in somatic cell hybrids by molecular
hybridization assay. Cell 12: 205 - 218 (1977)
- 12) Fritsch, E.F., Lawn, R.M., Maniatis, T.: Molecular
cloning and characterization of the human beta-like
globin gene cluster. Cell 19: 959, 972 (1980)

- 13) Huehns, E.R., Dance, N., Beaven, G.H., Hecht, F.,
Motulsky, A.G.: Human embryonic hemoglobins. Gold
Spring Harbour Symp. Quant. Biol. 19, 327 (1964)
- 14) Huehns, E.R., Hecht, F., Keil, K.V., Motulsky, A.G.:
Developmental hemoglobin anomalies in a chromosomal
triplication, D (1) trisomy syndrome. Proc. Nat. Acad.
Sci. 51, 89 (1964)
- 15) Jensen, M.: Fetal globin synthesis and prenatal
diagnosis of thalassemia. 28th Int. Congress of
physiol. sciences, Budapest 1980, Adv. Physiol. Sci.
Vol. 6, 153 - 163
- 16) Jensen, M., Attenberger, H., Schneider, Ch., Walther,
J.-U.: The developmental change in the (G)gamma-
and (A)gamma- globin. Proportions in hemoglobin F .
Eur J. Pediatr 138 : 311 - 314, (1982)
- 17) Jensen, M., Rauch, A., Zahn, V., Loukopoulos, D. :
Prenatal diagnosis of beta thalassemia. Report an 14
attempts. Klin Wschr 57 : 37 (1979)
- 18) Jensen, M., Zahn, V. : Pränataldiagnostik und
genetische Beratung der Thalassämien. Monatsschr.
Kinderheilk. 127, 711 - 713 (1979)

- 19) Kaltsoy, A., Fessas, P., Stavropoulos, A. :
Hemoglobins of early human embryonic developmet.
Science 153, 1417 (1966)
- 20) Kan, Y.W., Globus, M.S., Trecartin, R., Furbetta, M.,
Cao, A. : Prenatal diagnosis of homozygous beta-
thalassemia. Lancet II , 790 (1975)
- 21) Kan, Y.W., Globus, M.S. : Prenatal diagnosis of
hereditary hemoglobin disorders : Current
Developements. Ped. Res. 10, 367 (1976)
- 22) Kazazian, H.H. : Regulation of fetal hemoglobin
production. Sem. Hemtol. 11, 525 (1974)
- 23) Kleinhauer, E., Braun, H., Betke, K. : Demonstration
von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines
Blutausstriches. Klin. Wschr. 35, 635 - 636 (1957)
- 24) Lauer, J., Shen, C.-K., Maniatis, T. : The chromosomal
arrangement of human alpha-like globin genes: Sequence
homology and alpha-globin gene deletions. Cell 1980:
119, 130

- 25) Lebo, R.V., Carrano, A.V., Brukhart-Schulze, K. et al :
Assignment of human beta-, gamma- and delta-globin
genes to the short arm of chromosome 11 by chromosome
sorting and DNA restriction enzyme analysis. *Proc.*
Natl. Acad. Sci. USA 76, 5804 - 5808 , (1979)
- 26) Orend, K.H. : Die selektive Hämolyse von adulten
Erythrozyten in Mischungen mit fetalen Erythrozyten
und die Anwendung der Methode in der pränatalen
Diagnostik der beta-Thalassämie.
Inaugural-Dissertation, München 1980
- 27) Perutz, M.F. : Röntgenanalyse des Hämoglobins
Angew. Chemie 75, 589 (1963)
- 28) Perutz, M.F. The hemoglobin molecule
Scientific American, Inc. (1964)
- 29) Rauch, A. : Globinsynthese in fetalen erythroiden
Zellen - Ausgangswerte für die pränatale Diagnostik
der beta-Thalassämie. Inaugural-Dissertation, München
1982
- 30) Rovera, G., Magarian, C., Borum, T.W. : Resolution
of hemoglobin subunits by electrophoresis in acid urea
polyacrylamide gels containing Triton X-100 .
Anal. Biochem. 85 : 506 (1978)

- 31) Schmidt, R.F., Thews, G. : Physiologie des Menschen
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1976)
- 32) Schneider, Ch. : (G)gamma und (A)gamma-Globine im
Hämoglobin F von Feten und Neugeborenen und ihre
Korrelation mit der HbF-HbA-Umschaltung. Inaugural-
Dissertation, München 1984
- 33) Schroeder, W.A., Shelton, J.B., Cormik, J., Jones,
R.T. : The amino acid sequence of gamma-chain of
human fetal hemoglobin. Biochem. 2, 922 (1963)
- 34) Schroeder, W.A., Huisman, T.H., Shelton, J.R., Shelton,
J.B., Kleihauer, E., Dozy, A.M., Robberson, B. :
Evidence for multiple structural genes for the gamma-
chain of human fetal hemoglobin. Proc. Nat. Acad. Sci.
60, 537 (1968)
- 35) Schroeder, W.A., Huisman, T.H., Shelton, J.R., Wilson,
J.B. : An improved method for quantitative
determination of human fetal hemoglobin. Anal. Biochem.
35, 235 - 243 (1970)
- 36) Schwartz, E. : Abnormal globin synthesis in thalassemic
red cells. Sem. Hemat. 11, 594 (1974)

- 37) Siegenthaler : Klinische Pathophysiologie . Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- 38) Stryer Lubert : Biochemie . Dt. Übers. von J. Guglielmi Braunschweig-Wiesbaden (1978)
- 39) Stuart H. Orkin, Stylianos E. Antonarakis and Haig H. Kazazian : Polymorphism and molecular pathology of the human beta-globin gene. Progr. Hematol. 13 (1983)
- 40) Terasawa, T., Ogawa, M. : Hemoglobin biosynthesis in individual bursts from human adult peripheral and umbilical cord blood: Analysis of the relative rates of synthesis of (G)gamma and (A)gamma globin chains. J Cell Physiol 105 : 483 (1980)
- 41) Terrenato, L., Bertilaccio, C., Spinelli, P., Colombo, B. : The switsch from haemoglobin F to A : the time course of qualitative and quantitative variations of haemoglobins after birth. Brit J Haematol 47 : 31 (1981)
- 42) Weatherall, D.J., Pembrey, M.E., Pritchard, J. : Fetal Hemoglobin . Clin. Hematol. Vol. 3 : No. 2, 467 - 508 (1974)

- 43) Wood, W.G., Weatherall, D.J. : Hemoglobin synthesis during human fetal development. Nature 244, 162, (1973)

Lebenslauf

Franz-Ulrich Marienfeldt,

geboren am 8. März 1957 in Gelsenkirchen als zweites von drei Kindern des Dr. med. Franz Marienfeldt, Arzt für Innere Medizin, und seiner Ehefrau Dr. med. Anneliese Marienfeldt, geb. Pfordte, Ärztin für Chirurgie.

1963 - 1967 Besuch der Volksschule in Gelsenkirchen

1967 - 1973 Besuch des Schalker Gymnasiums in
Gelsenkirchen

1973 - 1976 Besuch der gymnasialen Oberstufe der
Gesamtschule Berger Feld in Gelsenkirchen,
Erwerb des Reifezeugnisses

1977 - 1984 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-
Maximilians-Universität München

1984 Erteilung der Approbation

1984 - 1985 Assistenzarzt an der Klinik Franken der BfA
in Bad Steben

1985 Assistenzarzt an der Klinik Kronprinz in
Prien am Chiemsee

